

Finns det hälsomässiga skillnader mellan A1- och A2-mjök

- vad säger vetenskapen?

Are there any health differences between A1 and A2
milk - What does science say?

Mathilda Bergman

Finns det hälsomässiga skillnader mellan A1- och A2- mjölk – vad säger vetenskapen?

Are there any health differences between A1 and A2 milk – What does science say?

Mathilda Bergman

Handledare: Åse Lundh, Sveriges lantbruksuniversitet,
Institutionen för molekylära vetenskaper

Examinator: Lena Dimberg, Sveriges lantbruksuniversitet,
Institutionen för molekylära vetenskaper

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i livsmedelsvetenskap - kandidatarbete

Kurskod: EX0669

Program/utbildning: Agronomprogrammet - Livsmedel

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2017

Serietitel: Molekylära vetenskaper

Delnummer i serien: 2017:12

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: β -caseins, A1 β -caseins, A2 β -caseins, BCM, BCM-7

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för naturresurser och jordbruksvetenskap
Institutionen för molekylära vetenskaper

Sammanfattning

Mjölk är ett viktigt och energigivande livsmedel och mjölk från olika arter och raser har varierande sammansättning. Av mjölkens proteiner består 80 % av kasein som kan delas in i fyra grupper där β -kasein är den näst största. Det finns 12 olika genetiska varianter av β -kasein där A1 β -kasein och A2 β -kasein är de mest vanliga. De skiljer sig åt genom en aminosyra; histidin i A1 och prolin i A2. Skillnaden gör att det från A1 enzymatiskt kan spjälkas av en bioaktiv peptid i matsmältningen hos människor. Peptiden, beta-kasomorfin-7 (BCM-7), kan binda till opioida receptorer i kroppen och ha olika fysiologiska effekter. För att den hydrolyserade opioiden ska kunna bli aktiv krävs att den ska ta sig över tarmväggen, troligtvis genom passiv transport, och också passera blod-hjärnbarriären för att nå det centrala nervsystemet. De potentiella fysiologiska effekterna påverkar det centrala nervsystemet, och kan orsaka andningsdepression, förvärra symptomen för autism, vara en bidragande faktor till diabetes typ 1 och hjärt-kärlsjukdomar och även påverka tarmrespons och kroniska inflammationer. Studierna som har gjorts har motsägelsefulla resultat vilket visar att kost, hälsa och sjukdom har komplexa samband och det är svårt att dra korrekta slutsatser på grund av förväxlingsfaktorer. Studiedesignerna, deltagarantalet och tidsperioden som studierna genomförs under är ofta kritiserade att vara begränsande. Vetenskapliga studier har dock visat att proteiner i kosten är en potentiell källa för bioaktiva peptider som kan agera med opioidreceptorer i kroppen. Det är även visat att vissa ko-raser har en större andel A2 β -kasein från vilka det inte spjälkas peptider lika lätt. Forskning och studier som hittills har gjorts kan inte utröna om det finns hälsomässiga skillnader mellan A1 och A2 mjölk.

Nyckelord: *β -caseins, A1 β -caseins, A2 β -caseins, BCM, BCM-7, A2 hypothesis, caseins, casomorphines*

Abstract

Milk is an important and nutritional food and milk from different species and breeds have varying composition. Of the milk proteins, 80 % is caseins that can be divided into four groups where β -caseins are the second largest group. There are 12 different genetic variants of β -caseins where A1 β -caseins and A2 β -caseins are the most common. They differ in one amino acid with histidine in A1 and proline in A2. The difference between them allows the A1 β -caseins to enzymatically be hydrolyzed with release of a bioactive peptide in the digestion. The peptide, beta-casomorphine-7 (BCM-7), can bind to opioid receptors in the body and have different physiological effects. In order for the hydrolyzed opioid to be active, it needs to pass over the intestinal wall, probably through passive transport, and also pass over the blood-brain barrier to reach the central nervous system. The potential physiological effects affect the central nervous system, and may cause respiratory depression, aggravate the symptoms of autism, be a contributing factor to type 1 diabetes and cardiovascular disease and also affect the intestinal response and chronic inflammations. The studies that have been made in the subject have contradictory results, which show that the relation between diet, health and disease are complex and it is difficult to draw correct conclusions due to confounding factors. The study design, the number of participants and the time period during which the studies are conducted are often criticized as being limiting. However, scientific studies have shown that proteins in the diet are a potential source of bioactive peptides that can act with opioid receptors in the body. It has also been shown that some cow breeds have a greater proportion of A2 β -caseins from which the peptide doesn't hydrolyze. Research and studies done so far can not determine whether there are any health differences between A1 and A2 milk.

Keywords: *β -caseins, A1 β -caseins, A2 β -caseins, BCM, BCM-7, A2 hypothesis, caseins, casomorphines*

Innehållsförteckning

Förkortningar	5
1 Inledning	7
2 Metod	9
3 Litteraturstudie.....	10
3.1 <i>Mjölkteiner</i>	10
3.1.1 β -Kasein A1 och A2	10
3.2 <i>Bioaktiva peptider och BCM-7</i>	11
3.3 <i>Fysiologiska effekter av BCM-7</i>	13
3.3.1 Centrala nervsystemet	13
3.3.2 Andningsdepression.....	13
3.3.3 Autism	14
3.3.4 Diabetes typ 1	14
3.3.5 Hjärt-kärlsjukdomar	15
3.3.6 Tarmrespons och kroniska inflammationer	16
4 Diskussion	18
5 Referenser	22

Förkortningar

BAP	Bioactive peptide
BCM	Beta-casomorphin
BCM-7	Beta-casomorphin-7
CCP	Casein phosphopeptide
DPP-4	Dipeptidyl-peptidas IV
EFSA	European Food Safety Authority
EU	Europeiska Unionen
FAO	Food and Agriculture Organisation of the United Nations
IPU	Intrinsically unstructured protein
LDL	Low density lipoprotein
PTS-1 (2, 3, 4)	Proteintransportsystem 1 (2, 3, 4)

1 Inledning

Mjölk har i århundraden varit en viktig källa för energi och makronutrientier för människor. Alla däggdjur har en specifik sammansättning av lipider, laktos och proteiner för att möta de krav som ställs av dess avkomma (Singh et al. 2014). Sammansättningen påverkas av ras, ålder, laktationsfas, säsong och fodersammansättning (FAO, 2017) Mjölk tillför inte bara energi utan även vitaminer och essentiella aminosyror. Genom mjölken får avkomman även tillgång till enzymer, hormoner och viktiga komponenter för immunförsvaret. När människan började domesticera djur ca 7 000-8 000 f.Kr. och fick tillgång till mjölk kom den första stora förändringen och utvecklingsfasen för det mänskliga släktet (Kinstedt, 2012). Sedan dess har mjölk och mjölkprodukter kommit att utgöra en stor och viktig del av vår kost. Under 2011 nådde mjölkproduktionen i EU ny rekordnivå på 150 miljoner ton och i världen uppgick den 2010 till 721 miljoner ton där 83 % utgjordes av komjölk (Lukkarién & Öberg- Lannhard, 2012). Enligt Livsmedelsverket utgör mejeriprodukter en av de viktigaste källorna för kalcium och de utgör ett viktigt bidrag till intaget av vitamin A, D och B12 samt riboflavin, jod, zink och essentiella aminosyror (Brugård Konde et al., 2015). Mjölken är ett viktigt livsmedel och ger tillgång till animaliskt protein världen över tack vare egenskaperna som högkvalitativt och den relativt enkla hanteringen. Komjölk utgör den största delen av konsumtionsmjölken och beroende på ras kan sammansättningen och den specifika kemiska strukturen i både fett och protein skilja något (Singh et al. 2014).

Det växande intresset för livsmedel och produkter som kan ha potentiella hälsofrämjande egenskaper har bidragit till ett fokus på forskning om peptider. Mjölken egenskaper påverkas i stort av proteinsammansättningen och ger mycket unika och viktiga egenskaper för produkter och det näringsmässiga innehållet. På grund av de teknologiskt viktiga kvaliteterna är mjölkproteiner ett av de mest utforskade proteinsystemen i livsmedel. Redan 1830 publicerades den första vetenskapliga artikeln av H. Braconnot där ordet kasein myntades. Sedan dess har forskningen gått framåt och idag forskar man på specifika proteiner. Genom olika projekt har man sekvenserat genomet för komjölk samt utvecklat tekniker för att genom gnuttryck förstå egenskaper och utvecklingsmöjligheter av mjölk och förädlade produkter. Genom detta har man upptäckt ko-raser som naturligt och kanske hälsomässigt fördelaktigt skiljer sig genetiskt från andra ko-raser (Singh et al. 2014).

Inom intakta proteiner finns peptidsekvenser som kan spjälkas av i digestionen och ha fysiologiska effekter i kroppen, så kallade bioaktiva peptider, BAPs (Asledottir,

2016). Mjolkprotein är den grupp som är mest studerad för dessa peptidsekvenser och deras möjliga bioaktivitet (EFSA, 2009). Forskning har visat att BAPs kan ha hälsofrämjande effekter men också motsatt effekt med negativa konsekvenser i kroppen (EFSA, 2009).

Komjölakens proteiner utgörs till 80 % av kaseiner vilka delas upp i α_{S1} - och α_{S2} -kasein, β -kasein och κ -kasein (Singh et al. 2014). Beta-kasein är den näst största gruppen inom kaseiner (Sodhi et al. 2012) och finns upp till 9-11 g/liter i moderna mjölkkor (Singh et al. 2014). Mutationer i genen för β -kaseinet, som består av 8505 baspar, har lett till tolv olika genetiska varianter, av vilka A1 och A2 är de vanligaste förekommande (Sodhi et al. 2012). A1 och A2 skiljer sig från varandra i en aminosyra på position 67 där A1 har histidin och A2 har prolin. Skillnaden bidrar till en förändring i konformationen i sekundärstrukturen av β -kaseinet som leder till att en BAP, som t.ex. beta-kasomorfin-7, BCM-7, kan spjälkas av A1 (Jianqin et al. 2016; Sodhi et al. 2012). BCM-7 är en BAP som aktiverar μ -opioidreceptorer i tarmen vilket kan ge fysiologiska och gastrointestinala effekter och öka aktiveringen av hjärnans belöningssystem (Jianqin et al. 2016). Kaseinfosopeptider (*caseinphosphopeptides*, CCP) som BCM-7 är kan ha en förbättrande effekt på kalciumtillgången i kroppen genom förbättrad tarmabsorption (McSweeney & O'Mahony, 2016). CPPs har även föreslagits motverka karies på grund av dess remineraliseringseffekt.

Till forskningen om dessa specifika β -kasein har hälsopåståenden kopplats av företag och mejerier som har lanserat så kallad A2-mjolk. Företagen hänvisar till forskning och menar att A2- β -kasein är hälsomässigt bättre eftersom de är lättare att smälta och ger en bättre och lättare magkänsla än mjolk med A1- β -kasein. BCM-7, härlett från A1, påstås bidra till mjölkintolerans och symptom kopplade till känslighet för mjolk och IBS (Pal et al. 2015). Den tros också öka risken för diabetes typ 1, kroniska inflammationer i tarm och kropp, autism samt risken för hjärt- och kärlsjukdomar (Sodhi et al. 2012; Singh et al. 2014). Viss litteratur har även föreslagit en koppling mellan plötslig spädbarnsdöd och intag av BCM-7 från modersmjölkersättning (Sun et al. 2003). Andra studier har visat att en ökad konsumtion av mjolkprodukter, och specifikt mjolkprotein kan sänka förekomsten av diabetes typ 2 (Singh et al. 2014).

De hälsomässiga påståendena är många om både A1 och A2 och mjolkproteinernas påverkan på hälsan har fått ett stort och växande intresse inom forskningen och mjolkindustrin. År 2000 grundades *The a2 Milk Company* på Nya Zeeland och har expanderat till Australien och vidare till Kina och Europa. De producerar konsumtionsmjolk från besättningar med kor som är homozygota för A2 varianten av β -kaseinet (Asledottir, 2016). De potentiella effekterna av A2 respektive A1 har studerats både *in vivo* och *in vitro* och 2009 gick EFSA, *European Food Safety Authority*, ut med en granskning av studier som har gjorts på A2 mjolk.

Forskningen om mjolk och mjolkprodukter har pågått under de senaste 200 åren vilket har gjort att det finns en uppsjö litteratur och studier av varierande syfte (Singh et al. 2014). Syftet med den här uppsatsen är att utröna och kartlägga om det finns hälsomässiga skillnader mellan A1 och A2 mjolk baserat på vetenskapliga studier.

2 Metod

Arbetet är en litteraturstudie med fokus på publicerad litteratur under de senaste 15 åren med vissa undantag där äldre publikationer har använts för att få en bättre förståelse till bakgrunden av de studier som gjorts. Sökmotorer som använts är Science Direct, Web of Science, Google Scholar, Primo, och Pub Med.

Sökord som användes var bland annat: β -caseins, A1 β -caseins, A2 β -caseins, BAP, BCM, BCM-7, A2 hypothesis, milk proteins, bovine proteins, caseins, casomorphines etc.

3 Litteraturstudie

3.1 Mjolkproteiner

Mjölken nutritionella innehåll beror på vilken art och vilken avkomma som mjölken är anpassad efter. Proteininnehållet skiljer sig stort mellan till exempel mänsklig mjölk och komjölk, och förhållandet mellan kasein och vassleprotein i människomjölk är 40:60, i komjölk 80:20 (Asledottir, 2016). Skillnaderna beror på det behov som avkomman har samt hur snabbt den tillväxer. Komjölken har en större andel protein än mänsklig mjölk på grund av kalvens snabba tillväxt medan människomjölken innehåller mer fett.

Av proteinerna i komjölk utgörs 20 % av vassleproteiner som α -laktalbumin (α -LA) och β -laktoglobulin samt några mindre fraktioner av andra proteiner. Upp till 80 % av proteinerna utgörs av kasein (Asledottir, 2016). Kasein är fosfoprotein, d.v.s har fosfatgrupper bundet till sig, och bildar aggregat eller miceller som binder kalciumjoner och bildar nano-kluster av kalciumfosfat (Horne, 2009). Nästan alla olika kaseinproteiner i mjölk finns i miceller. β -Kasein formar även oligomerer med andra β -kaseinmolekyler (Raynes et al. 2015). Micellerna har en svag tertiär struktur på grund av prolin, som gör kedjan obenägen att vika sig, och kluster av fosfoserin samt avsaknad av disulfidbryggor. Strukturen är dynamisk och ändras beroende på omgivningens tryck och temperatur. Den svaga tertiära strukturen gör att kaseinet är värmetåligt och inte lätt denatureras. Den exakta strukturen hos kaseinmicellen är omtvistad och ännu inte klarlagd men det finns en acceptans för en generell modell. Micellerna har en hydrofobisk egenskap och hålls samman genom kalciumfosfatklustren, med hydrofoba och elektrostatiske krafter (Singh et al. 2014). De har även hydrofila egenskaper vilket skapar en amfifil karaktär av micellen och bidrar till dess förmåga att agera som en stabilisator i emulsioner. Aggregaten bidrar även till mjölken vita färg och om de förstörs försvinner även den vita färgen (Horne, 2009).

3.1.1 β -Kasein A1 och A2

β -Kasein är så kallade "intrinsically unstructured protein", IPU, vilket betyder att de har en lös och oordnad tertiär struktur på grund av avsaknaden av disulfid bindningar (Felli & Pierattelli, 2002). A1 och A2 är två varianter av β -kasein

och skiljer sig med en aminosyra. Aminosyra sammansättningen i A1 och A2 skiljer sig enbart på en aminosyra i position 67 men i och med att histin byts till prolin påverkas även den sekundära strukturen av A1 och A2 proteinet. Prolin gör att kaseiner gärna formar PPII, proline II sekundära strukturer. Mutationen i A2 gör att PPII egenskaper förstärks (Raynes et al. 2015). Prolin gör att kedjan håller sig rak och ogärna veckar ihop sig i en tertiär struktur. A2-kasein bildar mindre miceller än A1 och får möjligtvis i och med det en annan chaperon-aktivitet vilket kan vara en förklaring i de olika proteinernas egenskaper (Raynes et al. 2015).

Raser som har en högre frekvens av genen för A2- β -kasein är bland annat Guernseykor, Jerseykor och kötttraserna Charolais och Limousin. Även den afrikanska rasen Zebu har en högre proportion av A2- β -kasein (Nguyen et al. 2015; Truswell, 2004)

3.2 Bioaktiva peptider och BCM-7

Skillnaden i den proteolytiska klyvningspunkten i A1 och A2 som resulterar i avspjälkningen av den bioaktiva BCM-7-peptiden, från proteinet beror på aminosyran i position 67. Bindningen med histidin i A1- β -kasein har benägenhet att lättare spjälkas än bindningen med prolin i A2- β -kasein. Peptiden som spjälkas av från A1 kan ha potentiell bioaktivitet. Peptider som spjälkas enzymatiskt i matsmältningen har potentiell bioaktivitet i kroppen när de binder till receptorer (Asledottir, 2016). Opioider är peptider som har morfin-liknande aktivitet och som binder till receptorer som finns i det centrala nervsystemet och i mag-tarmkanalen (Nguyen et al. 2015). Opioiderna är aktiva i kroppens respons på stress och smärta (Kamiński et al. 2007). Peptider härledda från livsmedel och mat och som binder till opioidreceptorer kallas även exogena opioidpeptider (EFSA, 2009).

BCM är en grupp av peptider som liknar varandra i strukturen och som har en längd av ca 4-11 aminosyror. Alla peptider i gruppen börjar med samma tre aminosyror; tyrosin, prolin och fenylalanin (Kamiński et al. 2014). BMC-7 består av aminosyrasekvensen Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Ile (EFSA, 2009). BMC-7 kan enbart hydrolyseras från β -kasein när histidin finns på position 67 av de 229 aminosyror, det vill säga från A1, och är den mest studerade peptiden med opioidegenskaper (Nguyen et al. 2015). Enligt EFSA:s rapport (2009) verkar det inte förekomma BCM-7 i oprocessad, färsk mjölk men peptiden har hittats i både konsumtionsmjölk och i viss ost men inte i yoghurt. Andra studier har funnit att BCM-7 finns även i oprocessad mjölk (Nguyen et al. 2015). Skillnaderna tyder på att typ av process och förädling av mjölken påverkar bildandet av BCM-7. Även naturligt förekommande enzymer och bakterier som kontaminerat mjölk kan få BCM att spjälkas av. Enligt Raies ul Haq et al. (2014) innehåller mjölksyrebakterier enzymet X-prolyl-diaminopeptidyl peptidase som har specificitet för BCM på grund av prolin-strukturen vilket förklarar varför de inte verkar förekomma i yoghurt.

A2 β -kasein har en peptidbindning mellan prolin och isoleucin som har ett starkare enzymatisk motstånd på grund av sekundärstrukturen än det i A1 vilket gör att BCM-7 inte spjälkas av lika lätt som i A1 varianten av β -kasein (Asledottir,

2016). Så länge proteinet är intakt är även peptiden och den potentiella bioaktiviteten inaktiv men efter hydrolys från proteinet har peptiden möjlighet att bli tillgänglig för upptag i tarmen.

Biotillgängligheten i tarmen och den potentiella bioaktiviteten av de hydrolyserade peptiderna beror på smältbarhet, absorption, och lösligheten av peptiden i mag- och tarmkanalen eftersom den måste bli aktiverad av receptorer i kroppen för att vara bioaktiv. Forskning har visat att vissa bioaktiva peptider från mjölk har antioxidativa och antihypertensiva, d.v.s. blodtryckssänkande, egenskaper samt att mineraler binder till dessa (Asledottir, 2016; Nongonierma et al. 2015)

Enligt EFSA:s rapport (2009) är aktiveringen av BCM-7, beroende på dess kapacitet och förmåga att gå över tarmväggen efter att peptiden hydrolyserats från proteinet. En förklaring till peptidens transport över tarmväggen tros vara via passiv transport, trots att passiv transport oftast sker enbart med enkla aminosyror eller dipeptider (EFSA, 2009; Asledottir, 2016).

För att peptider ska kunna ha en aktiv funktion i kroppen måste de vara intakta och inte hydrolyserats eller spjälkats vidare av peptidaser i stavbräm membranet som är tarmens veckade vägg där upptaget från tarmen sker. De flesta BCM är resistent mot många proteolytiska enzymer men blir relativt snabbt inaktiverade av enzymet dipeptidyl-peptidas IV, DPP-4 (Sun et al 2003). Enzymet finns i tarmslemhinnan, moderkakan, exokrina körtlar samt i njurarna. Degradering av peptiderna kan även ske i blodet och levern och halveringstiden av peptiderna är kort. De kan dock skyddas och bli mer resistent mot nedbrytning genom att binda till proteiner som albumin och transferrin. När peptiden är kopplad till ett annat protein kan den inte binda till receptorer. Enligt EFSA (2009), har halveringstiden för BMC i blodet inte studerats utan likande peptidsekvenser och längd har använts.

Opioiderna måste även passera blod-hjärnbarriären för att nå det centrala nervsystemet (EFSA, 2009). Blod-hjärnbarriären hindrar de flesta av peptiderna som kommer från mag- och tarmkanalen eftersom där finns enzymer som aminopeptidaser och andra proteolytiska enzymer som kan bryta ner och degradera peptider (Egleton & Davis, 2005). Det finns dock fyra olika peptidtransportsystem över blod-hjärnbarriären identifierade; PTS-1, PTS-2, PTS-3 och PTS-4 varav PTS-1 är den som känner igen opioidpeptider (Ermisch et al. 1992).

Opioidreceptorer är så kallade G-proteinkopplade receptorer som är involverande i flera transmembrana processer och cellulära responser. De är de främst förekommande i centrala nervsystemet och är ofta mål för läkemedelsverkan. De finns även i mag-tarmkanalen och i vävnader som kan kopplas till immunförsvarsrespons (EFSA, 2009). Det finns olika typer av receptorer och beroende på vilken som blir aktiverad kan det utlösa responser som ångest, hormonutsöndring, lyckokänslor, analgesi där smärtkänsligheten försvinner, ätmönster och aptit etc.

3.3 Fysiologiska effekter av BCM-7

3.3.1 Centrala nervsystemet

Flera studier är gjorda på BCM-7 och dess effekt på det centrala nervsystemet. De flesta är gjorda på råttor som har fått BCM-7 injicerat intracerebro-ventrikulärt för att undkomma blod-hjärnbarriären eller injicerats intra-peritoneal, d.v.s. i bukhinnan.

Studierna visade på att analgesi, d.v.s. bortfall av smärtkänslighet, uppnåddes när råttor injicerades intracerebro-ventriculärt och att BCM-7 hade längst aktiveringstid jämfört med andra BMC men även längst bevarande av den smärtstillande effekten (Brantl et al. 1981).

En studie av Dubynin et al. (2008) visade att BCM-7 som injicerades intra-peritonealt, kan ha en negativ effekt på nyfödda möss förmåga till miljöanpassning och inlärning.

3.3.2 Andningsdepression

Opioider som används som läkemedel och narkotika kan vid överkonsumtion och överdos ge andningsdepression då hjärnans kontrollcenter för andningen delvis kan slås ut (Nationalencyklopedin, 2017). Studier har gjorts som visat på samband mellan apné, som kan orsaka plötslig spädbarnsdöd, och potentiella opioida peptider, t.ex BCM-7 (Sun et al. 2003). Studier har misslyckats att påvisa förekomst av opioida peptider hos plasma, i frivilliga vuxna, efter intag av mjölk. Dock har studier gjorda på kalvar påvisat trolig prekursor till BCM-7 efter mjölkintag direkt efter födsel (Sun et al. 2003). Peptiden var skyddad av ett annat protein från enzymatisk nedbrytning. Studien visade att opioidaktiva peptider kan absorberas i tarmen av nyfödda däggdjur men inte hos äldre individer. Vuxna individer med tarmproblem som läckande tarm kan ha större koncentration av BCM-7 i blodet. Författarna påpekar att peptidas och enzymaktiviteten i tarmen hos nyfödda är näst intill obefintlig vilket kan göra att peptiderna från mjölken kan absorberas intakta. Studien som utfördes på råttor pekade även på att blod-hjärnbarriären möjligen inte är helt utvecklad hos nyfödda råttor vilket gör att peptiderna lättare tas upp (Sun et al 2003; Peruzzo et al. 2000). Sun et al. påpekar att det inte finns övertygande bevis att en ökad exogen opioidaktivitet kan orsaka plötslig spädbarnsdöd men att en endogen opioidaktivitet måste studeras vidare avseende kopplingar till plötslig spädbarnsdöd. Vidare spekulerar författarna om den exogena opioidaktiviteten, som utgörs av BCM-7, kan bidra till den endogena. Den endogena opioidaktiviteten är kroppens egna neuropeptider medan de exogena är de som tillkommer till kroppen via mat som t.ex. BCM-7 eller läkemedel.

DPP-4, dipeptidyl peptidas-4, är hittills det enda kända enzym som kan katabolisera BCM-7 i tunntarmen. En studie visade på att nivåerna av BCM-7 och DPP-4 i blodet hos friska barn korrelerade positivt medan hos barn med akut andningsdepression var nivåerna av BCM-7 förhöjda medan nivåerna av DPP-4 kraftigt sänkta (Wasilewska et al. 2011). De flesta mjölkersättningsprodukter som finns på marknaden har utvunnet vassle och kasein från komjölk som proteinkälla

vilket kan ge möjlighet till att de innehåller spjälkade BCM-7 (Raies ul Haq et al. 2014).

3.3.3 Autism

Autism är en neuropsychiatrisk funktionsnedsättning som är medfödd och ger en försämrad social interaktion och kommunikation. Etiologin och de bakomliggande orsakerna är inte kartlagda (EFSA, 2009). Personer med schizofreni och autism har påvisats ha högre koncentrationer av BCM-7 i både blod och urin vilket, enligt studien gjord av Sun och Cade (1999), kan bero på ett underskott eller defekt av hydrolytiska enzymer. Centrala nervsystemet har inte samma mognadsgrad hos individer med autism, vilket gör att BCM-7 lättare kan gå över blod-hjärnbarriären (Sun et al. 2003)

Läckande tarm sammankopplat med att neuroaktiva föreningar möjligen kan gå över blod-hjärnbarriären har diskuterats i samband med autism och har fått stöd av studier där uteslutande av kasein och gluten från diet i behandling av autism har visat sig positivt för många individer (Cade et al. 2000; Knivsberg et al. 2003). Studien av Cade et al. (2000) visade att en kost utan kasein och gluten gav en förbättring inom tre månader hos 81 % av de autistiska barn som deltog. Från gluten finns möjlighet att avspjälka gliadamorfin, ett exomorfin liknande BCM-7 och laboratorier ger möjligheten att fastställa nivåer av peptider, inklusive BCM-7 och gliadamorfin, i urinen som ett hjälpmedel till att se om en kostförändring kan hjälpa i behandling av autism (Cade et al. 2000; Allison & Clarke, 2005)). Resultaten har ifrågasatts av senare studier som saknat eller haft låga indikationer på att personer med autism har högre halter opioidpeptider i urinen (Cass et al. 2008).

I en studie med råttor som behandlades med BCM-7 uppvisade de efter 65 sekunder en ökad fysisk aktivitet, snabb andning etc. Efter 4 till 7 minuter minskade bland annat deras respons på ljud och sociala interaktioner eller uppstod inte alls. Efter 7-8 minuter minskade aktiviteten ytterligare och råttorna låg med huvudena mot hörnen och responsen på extern stimuli upphörde. Efter en timmes observation blev råttorna defensiva och aggressiva mot andra råttor medan kontrollgruppen inte uppvisade några liknande tecken (Sun & Cade, 1999). Studien menar på att det kan finnas ett samband mellan autism och även schizofreni och ackumulerande nivåer av BCM-7.

3.3.4 Diabetes typ 1

Typ 1 diabetes förekommer hos personer som har genetiska anlag för den autoimmuna sjukdomen som angriper och förstör de insulinproducerande beta-cellerna i bukspottskörteln men förekomsten av sjukdomen hänger även samman med olika miljöfaktorer (Merriman, 2008). Typ 1 uppkommer ofta hos barn och kan triggas av miljöfaktorer och resulterar i otillräcklig eller obefintlig insulinproduktion. Diabetes typ 1 har ökat markant under sista hälften av 1900-talet (Dahlquist, 2009; EFSA, 2009). Den dramatiska ökningen kan bero på förändringar i miljön och omgivningen som barn växer upp i (Dahlquist, 2009; Merriman, 2008). En sådan miljöfaktor tros vara införande av mjölkdrickande i tidig barndom.

Argumentet för detta stöds av Monetini et al. (2003) avseende förhöjt cellulärt immunpåslag mot β -kasein hos individer diagnostiserade med typ 1 diabetes. Dock är det motsägelsefullt eftersom mjölkkonsumtionen inte har ökat under samma tid som prevalensen för diabetes. Merriman (2008) menar att det kan vara den moderna förädlingen av mjölken som bidrar till strukturförändring i mjölkproteinet och därmed ogynnsam immuneffekt. Genetiska förändringar och en ökning av β -kasein A1 proteinet kan ha skett genom avel och avelsprogram. Vissa epidemiologiska studier avseende sambandet mellan prevalens av diabetes typ 1 i olika länder och konsumtion av A1-mjölk har visat en ganska stark positiv korrelation, medan andra studier inte har gjort det (Elliott et al. 1999; Merriman, 2009). Studier av islänningar och av Maasai folket i Afrika visar att en hög mjölkkonsumtion och hög prevalens av diabetes typ 1 inte korrelerar. Dock kan mjölken som konsumeras av de båda folkgrupperna ha en lägre proportion av β -kasein A1 i mjölken än i den mjölk som konsumerades av övriga länder i studien (Birgisdottir et al. 2002; Elliott et al. 1999). Tar man islänningar med i beräkningen i studien mellan länders mjölkkonsumtion och prevalens av diabetes typ 1 blir sambandet svagare (Merriman, 2009). Att ökningen av diabetes typ 1 ökar på grund av miljöfaktorer och inte av en högre genetisk prevalens stöds av migrationsstudier där inflyttade populationer i områden med högre andel diabetes typ 1 ofta får en högre prevalens (EFSA, 2009).

Kostrisikfaktorer har visat sig viktiga i utvecklandet av diabetes typ 1 och vissa studier har kopplat samman diabetes med kort amningstid och en tidig introduktion till komjölk (Gouveri et al. 2011). Andra kostfaktorer som enligt olika hypoteser kan påverka förekomst och utveckling av diabetes är sojamjölkkomponenter, vete och gluten och kemiska tillsatser (EFSA, 2009). En studie av Elitsur och Luk (1991) påvisade i *in vitro*-studier att BCM-7, kan påverka och inhibera immuncellers och lymfocyternas celldelning och proliferation. Det har argumenterats att undertryckningen av lymfocyterna påverkar mag-tarmkanalens immunförsvar negativt t.ex. mot enterovirus och endogena retrovirus, vilka har påvisat ha en del i utveckling av diabetes typ 1 (Elliott et al. 1999).

3.3.5 Hjärt-kärlsjukdomar

En bidragande faktor till hjärt-kärlsjukdom är högt blodtryck, diabetes och höga nivåer av blodfetter vilket orsakar åderförkalkning (Vårdguiden, 2015). En hypotes är att β -kasein A1 orsakar åderförkalkning och ökar risken för hjärt-och kärlsjukdomar (McLachlan, 2001). Hypotesen stöds av en studie som genomfördes för att studera korrelationen mellan intag av A1 β -kasein och mjölkprotein med kranskärlsjukdomar som uppstår av åderförfettning (Laugesen & Elliott, 2003). I studien följdes personer i 20 länder under 20 år och resultaten visade att det var ett positivt samband till A1 konsumtion och kranskärlsjukdomar. Även en interventionsstudie på kaniner visar att de som fick fettrik kost med β -kasein A1 visade sämre kardiovaskulär status med högre grad av förfettning i aorta och högre nivåer av plasmakolesterol än de kaniner som fick samma kost men med β -kasein A2 (Tailford et al. 2003). Studien kritiseras dock för att förutsättningarna för studien möjliggjorde ett resultat som inte speglar den verkliga mekanismen av

åderförfettnig. Kaniner, som användes som modell, har en högre känslighet för kolesterol än människor vilket ger en felaktig bild (EFSA, 2009).

Peptider från kasein anses generellt ha en antihypertensiv effekt och minska blodtrycket (Saito, 2008). Chin-Dusting et al. (2006) gjorde en studie på människor med kostsupplement av A1 och A2 för att utröna hypotesen om att A1-supplement ger en relativ förhöjd risk, i jämförelse med A2, i patienter i den högre riskzonen för hjärt-kärlsjukdomar. Resultatet i studien gav inga bevis för att β -kasein A1 hade några negativa konsekvenser för att utveckla hjärt-kärlsjukdom. Markörerna som användes, bland annat plasmalipider, inflammationsmarkörer, blodtryck och artärprofil, visade inga skillnader mellan de olika peptidkomplementen, A1 och A2.

Ytterligare en hypotes är att BCM-7 har möjlighet att oxidera LDL, low density lipoprotein, i det subendoteliala utrymmet i kärlen och orsaka åderförkalkning (Tailford et al. 2003; Torrealles & Guérin, 1995). Cirkulerande oxiderat LDL ökar påbyggnaden på kärlväggarna och minskar diametern succesivt i kärlen vilket leder till arterioskleriosis och blodet får ett ökat motstånd som till slut kan orsaka infarkter och hjärtsjukdomar (EFSA, 2009). Oxiderat LDL är immunogent och orsakar ett immunförsvarpåslag i kroppen. Antikroppar kan därför vara en biomarkör för hjärt-kärlsjukdom (EFSA, 2009; Zakyntinos & Pappa, 2009).

Senare studier som är gjorda för att bekräfta hypotesen har misslyckats med att visa samma resultat. Dock har man sett att vissa mathärledda peptider kan ha en antioxidativ effekt (Peng et al. 2009).

3.3.6 Tarmrespons och kroniska inflammationer

Beta-kasoemorfiner har en påstådd inverkan på immunologiska reaktioner i kroppen så som kroniska inflammationer, allergiska reaktioner och påverkan på huden. De ska även ha effekt på produktionen av muköst sekret, d.v.s. slem produktionen i mag-tarmkanalen. Sekretet har funktionen att skydda tarmväggen mot kymus, den smälta matblandningen från magsäcken, och skydda från att bakterier och okända partiklar tar sig in i kroppen genom det ospecifika immunförsvaret (Raies ul Haq et al. 2014). *In vivo*-studier har visat att kaseomorfiner minskar tarmens rörlighet och kontraktioner. Studier har även visat att BCM-7 bidrar till en ökad mucinproduktion i tarmslemhinnan genom att aktivera mucin-producerande celler som har opioidreceptorer. Effekten har dels tolkats som en skyddande mekanism mot inflammation (Zoghbi et al. 2006), men det har även tolkats som en aktivering av det ospecifika immunförsvaret och därmed en indikation på inflammation (Raies ul Haq et al. 2014).

En pilotstudie från 2014 utvärderade hur effekten av β -kasein A1 respektive A2 konsumtion tog sig i uttryck i tarmrespons och tarmeffekt (Ho et al. 2014). Avföringskonsistensen var utvärderad enligt *Bristol Stool Scale*, en medicinsk skattningsskala. Enligt skattningsskalan hade deltagarna som konsumerat A1 signifikant högre värden än deltagarna som konsumerat A2. Ett högre värde på skalan betyder en lösare konsistens och möjligen en snabbare tarmgenomgång och möjlig inflammation. Det var ingen skillnad i tarmfrekvens eller rörelsen. Studien rapporterade att uppblåsthet och buksmärta var högre för A1 konsumenterna än A2, dock inte statistiskt signifikant. De som var självdiagnostiserade för mjölkintolerans

hade högre rapporteringsgrad av uppblåsthet och buksmärta av A1 än A2. Tidigare studier har visat att A1 konsumtion förlänger tarmtransitering i gnagare och att peptiden gett en högre koncentration av myeloperoxidas som är en indikator för inflammation (Barnett et al. 2014). Myeloperoxidaskoncentrationen i tjocktarmen har en pro-inflammatorisk effekt och påverkas troligen av opioidreceptorer. Studien visade även på en lägre aktivitet av DPP-4, dipeptidyl peptidase, vilket tros visa på en homeostatisk skyddsmekanism. DPP-4 är det enda kända matsmältningsenzymet att katabolisera, d.v.s bryta ner, BCM-7. Vid inflammation kan DPP-4 undertryckas vilket kan förlänga halveringstiden för BCM-7 som där med kan verka i tarmen under en längre tid (Barnett et al. 2014).

Lymfocyter är en typ av vita blodkroppar som är involverade i det ospecifika immunförsvaret. När de påträffar antigener, kroppsfrämmande ämnen, börjar de dela sig, profilera, för att kunna bekämpa antigenen (Raies ul Haq et al. 2014). BCM-7 i låga koncentrationer visades ha en undertryckande effekt på lymfocyternas profilering men en stimulerande effekt i högre koncentrationer. Kroppen producerar antikroppar vid allergier och anafylaktiska reaktioner och i förlängningen kan histamin, som är aktivt i kroppens inflammatoriska svar, frigöras. I *in vivo* och *in vitro*-studier har man kunnat se att opioider kan ge histaminpåslag och anafylaktisk reaktioner och där igenom har man utformat en hypotes att BCM-7 kan ha en bidragande roll i mjölkproteinallergi (Raies ul Haq et al. 2014).

4 Diskussion

Studier av mjölkkonsumtion har visat att det förebygger övervikt, benskörhet och förbättrar tandhälsa och vissa studier visar att mjölk även skyddar mot hjärtkärlsjukdomar, högt blodtryck och diabetes och därigenom det metabola syndromet (Elwood et al. 2010; Jaffiol, 2008; Jauhiainen & Korpela, 2007). Samtidigt visar andra studier motsatsen dvs. att mjölk är skadligt och kan orsaka hjärtkärlsjukdomar, diabetes typ 1, försämrad autism och ge läckande tarm och inflammationer (McLachlan, 2001; Birgisdottir et al. 2003). Att resultaten från studier går emot varandra tyder på att det är komplexa samband mellan mat och sjukdom och i förlängningen svårigheter att tolka orsak och verkan. Ofta kan man inte utesluta förväxlingsfaktorer och studier på människor och djur är ofta för små och genomförs under kort tid vilket gör att felaktiga slutsatser kan dras (Reutfors et al. 2003). Det är även svårt att översätta resultat från djurstudier till människor och resultaten uteblir ofta när människostudier genomförs baserat på resultaten i djurstudier (McSweeney & O'Mahony, 2016). För att kunna dra riktiga slutsatser krävs omfattande studier som blir både dyra och tidsödande och som även har en etisk aspekt att ta hänsyn till.

Mjölk är ett komplex livsmedel och man vet ännu inte hur de underliggande mekanismerna för BCM-7 fungerar. Även hur BCM-7 spjälkas av från proteinet eller degraderas i olika förädlingssteg av mjölk är outrett (Raies ul Haq et al. 2014). Studierna som har gjorts och visat positiva resultat till fördel för A2 β -kasein kritiserar ofta för att vara otillräckliga t.ex. användning av referensdjur som inte är representativa eller kan extrapoleras till effekter i människa eller att ha proportioner av A2 β -kasein och A1 β -kasein i försöken som inte representerar den verkliga relationen i den konsumtionsmjölk konsumenterna har tillgång till (EFSA, 2009). Truswell (2005) publicerade en kritisk granskning av gjorda studier, en granskning som ofta används för att kritisera hypotesen att A2 β -kasein har hälsofördelar medan förespråkarna för A2 hävdar att han utelämnar och gör en selektiv utvärdering av olika studier (Woodford, 2005).

I EFSA:s (2009) granskning av de vetenskapliga belägen för A2-mjölk menar de att det finns vetenskapliga bevis för att, utifrån djurstudier, med säkerhet kunna säga att proteiner i kosten är en potentiell källa för bioaktiva peptider som kan agera med opioidreceptorer i kroppen och att vissa ko-raser har gener för att ha en stor andel A1 β -kasein från vilken det enzymatiskt kan avspjälkas BCM-7. Det finns inte tillräcklig information om spridning av mjölkprodukter och därmed konsumtion av olika sorters mjölk och deras sammansättning för att avgöra hur människor är

exponerade för olika β -kasein och potentiella hälsoeffekter. Forskningen har inte klargjort hur förädlingen av mjölk påverkar BCM-7 eller stabiliteten av dessa och har inte heller kunna bevisa att peptiden finns i oprocessad mjölk (EFSA, 2009; Nguyen et al. 2015). Det är inte heller klarlagt hur eller till vilken grad peptiden kan ta sig över tarmbarriären och blodhjärnbarriären men studier antyder att de kan transporteras över tarmslemhinnan (Cade et al. 2000; Knivsberg et al. 2003; Sun et al. 2003). Det är inte utrett hur peptiderna fortsätter att vara intakta eller hur länge eftersom de är känsliga för hydrolys av DPP-4, dipeptidyl peptidase IV (Barnett et al. 2014). Kasomorfiner har visat sig ha en påverkan på tarmen och tarmväggen. Två djurstudier har visat påverkan på centrala nervsystemet och funnit BCM-7 i blodplasma efter injicering av β -kasein men studier har inte visat på BCM-7 i blodet efter intag av mjölk i *in vivo*-studier utan enbart i simulerad matsmältning (EFSA, 2009). En del studiers resultat har inte kunnat bekräftas av senare studier men det har ändå föreslagits ett positivt samband mellan t.ex. autism och BCM-7 (Knivsberg et al. 2003; Sun & Cade, 1999). Djurstudien som studerade LDL-oxidation i samband med kaseinkonsumtion och visade ett positivt samband kritiserades för att ha använt kaniner som modelldjur eftersom resultaten inte kan översättas till potentiella effekter i människa (EFSA, 2009; Tailford et al. 2003; Torrelles & Guérin, 1995).

Konsumtion av A1 β -kasein och utvecklande av hjärtsjukdomar har inte kunnat påvisas på grund av att de interventionsstudier som utförts har varit för begränsande i antal deltagande och tidsperiod samt att de inte kunde uppvisa biomarkörer för hjärtsjukdom (Chin-Dusting et al. 2006). En tidigare generell bild är att kaseinpeptider har en antihypertensiv effekt och minskar blodtrycket (Saito, 2008).

Utveckling av diabetes typ 1 beror på genetiska anlag och miljöfaktorer där kostfaktorer spelar in i den immunologiska mekanismen bakom sjukdom. Epidemiologiska studier har visat ett visst samband mellan diabetes typ 1 och BCM-7 men det går inte att klargöra orsak och verkan eller inverkan av förväxlingsfaktorer (Birgisdottir et al. 2006; Dahlquist, 2009; Merriman, 2008). Andra kostfaktorer som möjligen påverkar utveckling av diabetes är gluten, soja och en kort amningsperiod (EFSA, 2009). En koppling mellan mjölkersättningsprodukter och plötslig spädbarnsdöd har föreslagits i vissa studier men inte kunnat bevisas. Kopplingen föreslås vara i kombination med att tarmvägg och blodhjärnbarriären inte är fullt utvecklad hos spädbarn vilket till viss del har kunnat visas i djurstudier (Peruzzo et al. 2000; Sun et al. 2003). Studierna föreslår att peptiderna kan absorberas nästan helt intakta på grund av en inte fullt utvecklad tarm samt låga nivåer och aktivitet av DPP-4 (Wasilewska et al. 2011). Sun et al. (2003) menar att mer forskning behövs för att klarlägga hur den endogena opioidaktiviteten påverkas av de exogena opioiderna som utgörs av BCM-7 och Raies ul Haq et al. (2014) väcker debatten om att mjölkersättning oftast är gjord av komjölk och att forskning därför behövs på området för att kunna utesluta påverkan av BCM-7 och plötslig spädbarnsdöd. Det kommer nästan varje vecka rapporter om bioaktiva peptider och deras mekanism i kroppen och det krävs uppföljning av de nya resultaten för att kunna få en sanningsenlig bild av hur de verkar (Singh et al. 2014). Forskningen på de bioaktiva peptiderna har gjort att företagen fått upp ögonen för dessa som en potentiell

ingrediens i så kallade *functional foods* eller mervärdesmat (Singh et al. 2014). Det finns ingen specifik definition för mervärdesmat i Sverige och inte heller någon internationell standard men i det EU-sponsrade projektet ”Functional Food Science in Europe” enades projektets deltagare om (Asp, 2002):

”Ett livsmedel kan anses ”funktionellt” om det visats påverka en eller flera funktioner i kroppen gynnsamt, utöver normala funktioner av näringsämnen, på ett sätt som är relevant för förbättringar av hälsa och välbefinnande och/eller minska risk för sjukdom. Functional foods är livsmedel, inte tabletter eller kapslar, och effekterna skall uppkomma vid konsumtion som en del av en normal kost. ”

Potentialen för användningen av peptiderna till mervärdesmat ses som stor av både forskare och industri (Singh et al. 2014). Produkterna som skall klassas som mervärdesmat ska uppvisa produktspecifika fysiologiska egenskaper med vetenskapliga studier på människor och dokumentation som skall vara granskad av berörda myndigheter och vetenskap (Asp, 2002). *The a2 Milk Company* som lanserade A2 mjölken ådrog sig böter för att ha kopplat hälsopåståenden till produkten och har försökt att få ett godkännande att marknadsföra mjölken med hälsopåståenden men har hittills inte lyckats (Singh et al. 2014). De försökte även att få en märkning av den vanliga konsumtionsmjölken baserad på A1 som uttryckligen skulle varna konsumenter för att vara farlig. Det fick dock avslag i domstol.

Mjölakens näringsmässiga fördel som ett säkert livsmedel gör att det är eftertraktat världen över. FAO, *Food and Agriculture Organization*, förutspår att efterfrågan av mjölkprodukter kommer att dubblas till år 2050 (Singh et al. 2014). Det ger ett stort utrymme för forskare, industri och konsumenter att påverka vad för slags mjölk och vilka produkter som ska finnas.

Om hypotesen avseende fördelarna med A2 β -kasein kan bevisas skulle det få stora följder för mjölkindustrin och dess avelsprogram. Det skulle få konsekvenser för avelsarbetet och redan nu finns en diskussion bland förespråkare att producenter ska införa selektion av A2 i sitt avelsarbete i befintliga besättningar för att kunna ligga steget före om fler studier visar fördelar med A2 β -kasein eller om det blir en större efterfrågan hos konsumenterna (Mencarini et al. 2013). Med tanke på att de raser som har störst proportion A2 β -kasein är kötttraser som Charolais och Limousin så kan det tänkas att det blir svårt att nå en mjölkavkastning som vi är vana vid med dagens mjölkkor. Eftersom kötttraser är avlade till att få muskelmassa och en bra tillväxt har man inte mjölkavkastning som mål inom aveln. Även Jerseykor har en relativt låg mjölkavkastning jämfört med dagens produktionsdjur. Jerseykor producerar i snitt ca 21 kg mjölk/dag medan en Holstein producerar nästan 30 kg mjölk/dag, dock har mjölken från Jerseykor ett högre protein- och fettinnehåll än mjölken från Holstein (Capper & Cady, 2012). Även mejeribranschen kommer att möta utmaningar i att utforma en produktionslinje fri från inblandning från A1 mjölk.

Men redan innan det att teorin accepteras eller avvisas har hypotesen ett enormt ekonomiskt värde för de företag och producenter som kan sälja A2 mjölk till konsumenter. Ett mervärde kan tas ut på mjölken vilket ger ett ekonomiskt incitament för företagen att sponsra forskning om hälsofördelar av A2 β -kasein

vilket kan ge tvivelaktiga resultat. Diskussionen om beta-kasomorfinsers fysiologiska roll kommer att fortsätta att vara kontroversiell fram till att mer forskning kan klargöra dess roll som potentiell mervärdesmat eller sjukdomsframkallande. Studierna som hittills har gjorts kan inte med säkerhet avgöra om det finns hälsomässiga skillnader mellan mjölk med A1 och A2 β -kasein.

5 Referenser

Allison, A. J., Clarke, A. J., (2005). Further research for consideration in 'the A2 milk case'. *European Journal of Clinical Nutrition*. 60(2006): 921-924.

Asledottir, T., (2016). *Ex vivo digestion of bovine milk with genetic variants A1 and A2 of β -Casein and identification of bioactive peptides*. Norwegian University of Life Sciences. Department of Chemistry, Biotechnology and Food Science. (Master's Thesis).

Asp, N. G., (2002). Mervärdesmat, nyttomat eller mat med hälsopåståenden? *Scandinavian Journal of Nutrition*. 46(1): 55-56.

Barnett, M. P., McNabb, W. C., Roy, N. C., Woodford, K. B., Clarke, A. J., (2014). Dietary A1 β -casein affects gastrointestinal transit time, dipeptidyl peptidase-4 activity, and inflammatory status relative to A2 β -casein in Wistar rats. *International Journal of Food Science and Nutrition*. 65(6):720-727.

Birgisdottir, B. E., Hill, J. P., Harris, D. P., Thorsdottir I., (2003). Variation in consumption of cow milk proteins and lower incident of Type 1 diabetes in Iceland vs the other 4 Nordic countries. *Diabetes, Nutrition, Metabolism*. 15(4):240-245.

Birgisdottir, B. E., Hill, J. P., Thorsson, A. V., Thorsdottir, I., (2006). Lower consumption of cow milk protein A1 β -casein at 2 years of age, rather than consumption among 11- to 14-year-old adolescents, may explain the lower incidence of type 1 diabetes in Iceland than in Scandinavia. *Annals of Nutrition & Metabolism*. 50(3): 177-183.

Brantl, V., Teschmacher, H., Blasig, J., Henchen, A., Lottspeich F., (1981). Opioid activities of beta-casomorphins. *Life Science*. 28(17): 1903-1909.

Brugård Konde, Å., Bjerselius, R., Haglund, L., Jansson A., Pearson, M., Färnstrand S J., Johansson A-K., (2015) *Råd om bra matvanor- Risk- och nyttohanteringsrapport*. Livsmedelsverket (2015:5)

Cade, R., Privette, M., Fregly, M., Edelstein, C., (2000). Autism and Schizophrenia: Intestinal Disorders. *Nutritional Neuroscience*. 3(1):57-72.

Campbell, C. G., Brown, B. D., Dufner, D., Thorland, W. G., (2006). Effects of soy or milk protein during a high-fat feeding challenge on oxidative stress, inflammation, and lipids in healthy men. *Lipids*. 41(3): 257-65.

Capper, J. L., Cady, R. A., (2012). A comparison of the environmental impact of Jersey compared with Holstein milk for cheese production. *Journal of Dairy Science*. 95(1): 165-176.

Cass, H., Gringras, P., March, J., McKendrick, I., O'Hare, A. E., Owen, L., Pollin, C., (2008). Absence of urinary opioid peptides in children with autism. *Archives of Disease in Childhood*. 93(9): 745-759.

Chin-Dusting, J., Shennan, J., Jones, E., Williams, C., Kingwell, B., Dart, A., (2006). Effect of dietary supplementation with β -casein A1 or A2 on markers of disease development in individuals at high risk of cardiovascular disease. *British Journal of Nutrition*. 95(1):136-144.

Dahlquist, G., (2009). Diabetes typ 1 ökar dramatiskt hos barn i Europa. *Läkartidningen*, 9 september.

Dubynin, V. A., Malinovskaya, I. V., Belyaeva, Y. A., Stovolosov I. S., Bespalova, Z. D., Andreeva, L. A., Kamenskii, A. A., Myasoedov, N. F., (2008). Delayed effects of exorphins on learning of albino rat pups. *Biology Bulletin*. 35(1):43-49.

EFSA, (2009). Workgroup: De Noni, I., FitzGerald, R. J., Korhonen, H. J. T., Le Roux, Y., Livesey, C. T., Thorsdottir, I., Tomé, D., Witkamp, R. Review of the potential health impact of β -casomorphins and related peptides. European Food Safety Authority, *EFSA Scientific Report* 231, 1-107.

Egleton, R. D., Davis, T. P., (2005). Development of neuropeptide drugs that cross the blood-brain barrier. *NeuroRx: the Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutic*. 2(1): 44-53.

Elitsur, Y., Luk, G. D., (1991). Beta-casomorphin (BMC) and human colonic lamina propria lymphocyte proliferation. *Clinical and Experimental Immunology*. 85(3):493-497.

Elliott, R. B., Harris D. P., Hill, J. P., Bibby, N. J., Wasmuth, H. E., (1999). Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus and cow milk: casein variant consumption. *Diabetologia*. 42(3):292-296

Elwood, P. C., Pickering, J., Givens, D. I., Gallacher, J. E., (2010). The consumption of milk and dairy foods and the incidence of vascular disease and diabetes: An Overview of the evidence. *Lipids*. 45(10): 925-939.

Ermisch, A., Landgraf, R., Rühle, H. J. (red) (1992). *Progress in Brain Research volume 91: Circumventricular organs and brain fluid environment*. Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam. Tillgänglig;
<https://books.google.se/books?id=MB92L8HeKzgC&pg=PA144&lpg=PA144&dq=PTS-1+BBB&source=bl&ots=V-RrrknIm4&sig=NsnUQ0NBXYn1zr-XFw9AO-f2FnA&hl=sv&sa=X&ved=0ahUKEwjxiJ3xmr3TAhWkKJoKHZhDAi8Q6AEIIzAA#v=onepage&q=PTS-1%20BBB&f=false> [2017-04-24]

Felli, I. C., Pierattelli, R. (red) (2002). *Intrinsically Disordered Proteins Studied by NMR Spectroscopy*. Springer International Publishing Switzerland. Tillgänglig:

<https://books.google.se/books?id=QwmVCgAAQBAJ&pg=PA231&lpg=PA231&dq=Syme+et+al.,+2002&source=bl&ots=g7fZOe5of2&sig=maV48fzpq-WD5Hbh4pkZqjytPeg&hl=sv&sa=X&ved=0ahUKEwiFg6DQkaHTAhWBIPoKH8UBpMQ6AEII DAB#v=onepage&q=Syme%20et%20al.%2C%202002&f=false> [2017-04-10]

Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO, (2017). *Dairy production and products- Milk composition*. Available at: <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/milk-and-milk-products/milk-composition/en/#.WONiM3SLRE4> [2017-04-04]

Gouveri, E., Papanas N., Hatzitolios A., Maltezos E., (2011). Breastfeeding and diabetes. *Current Diabetes Reviews*. 7(2):135-42.

Ho, S., Woodford, K., Kukuljan S., Pal, S., (2014). Comparative effects of A1 versus A2 beta-casein on gastrointestinal measures: a blinded randomised cross-over pilot study. *European Journal of Clinical Nutrition*. 68(9): 994-1000.

Horne, D., (2009). Casein micelle structure and stability. I: Thompson, A., Boland, M., Singh, H. (red). *Milk Proteins:from Expression to Food*. USA, Elsevier, ss. 133-162.

Jaffiol, C., (2008). Milk and dairy products in the prevention and therapy of obesity, type 2 diabetes and metabolic syndrome. *Bulletin de l'Academie Nationale de Medecine*. 192(4): 749-58.

Jauhiainen, T., Korpela, R., (2007). Milk peptides and blood pressure. *The Journal of Nutrition*. 137(3): 825-9.

Jianqin, S., Leiming, X., Lu, X., Yelland, G. W., Ni, J., Clarke, A., J., (2016). Effects of milk containing only A2 beta casein versus milk containing both A1 and A2 casein proteins on gastrointestinal physiology, symptoms of discomfort, and cognitive behaviour of people with self-reported intolerance to traditional cows' milk. *Nutrition Journal* 15(45).

Kamiński, S., Cieslińska, A., Kostyra, E., (2007). Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health. *Journal of applied Genetics*. 48(3):189-98.

Kindstedt, P., (2012). *Cheese and Culture: A history of Cheese and its Place in Western Civilization*. Chelsea Green Publishing. Available at: https://books.google.se/books?id=HiGGcFomlUC&pg=PR4&lpg=PR4&dq=Kindstedt,+2012&source=bl&ots=94Nbe3l_Cp&sig=P5Zz8zKuASFrNjRwZn9PojNUFBQ&hl=sv&sa=X&ved=0ahUKEwiI942toorTAhUkApoKHXReNDxIQ6AEIHDA#v=onepage&q=Kindstedt%2C%202012&f=false [2017-04-04]

Knivsberg, A-M., Reichelt, K., Høien, T., Nødland, M., (2003). Effect of dietary intervention on autistic behavior. *Focus on Autism and Other Developmental Disabilities*. 18(4): 248-257.

Laugesen, M., Elliott, R., (2003). Ischaemic heart disease, Type 1 diabetes, and cow milk A1 beta-casein. *The New Zealand Medical Journal*. 116(1168):U295

Lukkarinen, J. & Öberg-Lannhard, Å., (2012). *Marknadsöversikt - mjölk och mejeriprodukter*. Jordbruksverket: Enheten för handel och marknad. (2012:7)

McLachlan C. N., (2001). Beta-casein A1, ischaemic heart disease mortality, and other illnesses. *Medical Hypothesis*. 56(2): 262-272.

McSweeney, P., O'Mahony, J., (red) (2016). Advanced Dairy Chemistry: Volume 1B: Proteins: Applied Aspects. 4. Uppl. Springer.

Mencarini, I. R., Woodford, K. B., Old, K.M., (2013). Comparing herd selection strategies for A2 beta-casein. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*. 73(1): 149-154.

Merriman, T. R., (2008). Type 1 diabetes, the A1 milk hypotheses and vitamin D deficiency. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 83(209)149-156.

Monetini, L., Barone, F., Stefanini, L., Petrone, A., Walk, T., Jung, G., Thorpe, R., Pozzilli, P., Cavallo, M. G., (2003). Establishment of T cell lines to bovine β -casein and β -casein-derived epitopes in patients with type 1 diabetes. *Journal of Endocrinology*. 176(1):143-150.

Nationalencyklopedin, Andningsdepression.

<http://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/l%C3%A5ng/andningsdepression> [2017-04-24]

Nguyen, D. D., Johnson, S. J., Buseti F., Solha, V. A., (2015). Formation and degradation of beta-casomorphins in dairy processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 55:1955-1967.

Nongonierma, A. B., O'keeffe, M. B., FitzGerald, R. J., (2015). Milk proteins hydrolysates and bioactive peptides. I: McSweeney, P. L. H., O'Mahony, J. A. (red), *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1B: Proteins: Applied Aspects*. Springer, ss.418-420.

Pal, S., Woodford, K., Kukuljan, S., Ho, S., (2015). Milk intolerance, beta-casein and lactose. *Nutrients* 7(9): 7285-7297.

Truswell, AS., (2005). The A2 milk case: a critical review. *European Journal of Clinical Nutrition*. 59(5): 623-31.

Peng, X., Xiong, Y. L., Kong, B., (2009). Antioxidant activity of peptide fractions from whey protein hydrolysates as measured by electron spin resonance. *Food Chemistry*. 113(1): 196-201.

Peruzzo, B., Pastor, F. E., Blazquez, J. L., Schöbitz, B., peláez, B., Amat, P., Rodríguez, E. M., (2000). A second look at the barriers of the medial basal hypothalamus. *Experimental Brain Research*. 132(1):10-26.

Raies ul Haq, M., Kapila, R., Shandilya, U. K., Kapila, S., (2014). Impact of milk derived β -casomorphins on physiological functions and trends in research: A review. *International Journal of Food Properties*. 17(8): 1726-1741.

Raynes, J. K., Day, L., Augustin, M. A., Carvert, J. A., (2015). Structural differences between bovine A1 and A2 β -casein alter micell self-assembly and influence molecular chaperone activity. *Journal of Dairy Science* 98(4): 2172-2182.

- Reutfors, J., Olén, O., Magnusson, C., Pettersson, A., (2013). Att studera ovanliga utfall. *Läkartidningen*. [2017-04-26].
- Saito, T., (2008). Antihypertensive peptides derived from bovine casein and whey proteins. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 606(1): 295-317.
- Singh, H., Boland, M., Thompson, A., (red) (2014). *Milk Proteins: From Expression to Food*, Available at Science Direct : <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-405171-3/00002-7>.
- Sodhi, M., Mukesh, M., Kataria R. S.m Mishra B. P., Joshii, B. K., (2012). Milk proteins and human health: A1/A2 milk hypothesis. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. Vol 16(5): 856.
- Steinberg, D., (1997). Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *The Journal of Biological Chemistry*. 272: 20936-20966.
- Sun, Z., Cade, R., (1999). A peptide found in schizophrenia and autism causes behavioral changes in rats. *SAGE journal*. 3(1):85-95.
- Sun, Z., Zhang, Z., Wang, X., Cade, R., Elmir Z., Fregly, M., (2003). Relation of beta-casomorphin to apnea in sudden infant death syndrome. *Peptide*. 24(6):937-43.
- Tailford, K. A., Berry, C. L., Thomas, A. C., Campbell J. H., (2003). A casein variant in cow's milk is atherogenic. *Atherosclerosis*. 170(1):13-19.
- Torreilles J., Guérin, M. C., (1995). Casein-derived peptides can promote human LDL oxidation by a peroxidase-dependent and metal-independent process. *Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie et de ses Filiales*. 189(5):933-942.
- Truswell, A. S., (2004). The A2 milk case: a critical review. *European Journal of Clinical Nutrition*. 59(1): 623-631
- Vårdguiden, (2015). *Så undviker du hjärt-kärlsjukdom*. Tillgänglig: <https://www.1177.se/Vastra-Gotaland/Fakta-och-rad/Mer-om/Sa-undviker-du-hjart-karlsjukdom/> [2017-04-26]
- Wasilewska, J., Sienkiewicz-Szlapka, E., Kuźbida, E., Jarmołowska, B., Kaczmarek, M., Kostyra, E., (2011). The exogenous opioid peptides and DPP-IV serum activity in infants with apnoea expressed as apparent life threatening events (ALTE). *Neuropeptides*. 45(3): 189-95.
- Woodford, K. B., (2005). A critique of Truswell's A2 milk review. *European Journal of Clinical Nutrition*. 60(3): 437-439.
- Zakynthinos, E., Pappa, N., (2009). Inflammatory biomarkers in coronary disease. *Journal of Cardiology*. 53(3): 317-333.
- Zoghbi, S., Trompette, A., Claustre, J., Homsy, E. M., Garzón, J., Jourdan, G., Scoazec, J. Y., Plaisancié P., (2006). Beta-casomorphin-7 regulates the secretion and expression of gastrointestinal mucins through a mu-opioid pathway. *American Journal of Physiology, Gastrointestinal and Liver Physiology*. 290 (6): 1105-13.

